

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

AII

000838420

WPI Acc No: 71-80135S/197150

**Alpha and beta-6-desoxy-5-acyl-oxytetracyclines-prepd - by reduction  
corresponding 6-methylene or 11-alpha**

Patent Assignee: SOC FARM ITALIA SPA (FARM )

Number of Countries: 009 Number of Patents: 010

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Main IPC	Week
BE 768381	A					197150	B
DE 2128432	A					197151	
NL 7107555	A					197201	
JP 47000418	A					197204	
ZA 7103734	A					197206	
FR 2100752	A					197226	
GB 1288905	A					197237	
SU 430545	A	19741125				197519	
CA 969930	A	19750624				197528	
JP 77033115	B	19770826				197738	

Priority Applications (No Type Date): IT 7025875 A 19700612

Abstract (Basic): BE 768381 A

Alpha and beta-6-desoxy-5-acyl-oxytetracyclines - prep'd. by  
reducing corresponding 6-methylene or 11-alpha-chloro-6-methylene -  
derivs or acylation of 5-hydroxy cps. Title cpds. of formula: (where R  
= 1-10C mono- or di-carboxylic organic radical X = H, Cl, Br) are  
prepared by hydrogenation of the corresponding  
6-dimethyl-6-desoxy-6-methylene-5-acyloxytetracycline or the 11  
alpha-chloro-6-demethyl-6-desoxy-6-methylene-5-acyloxytetracycline or  
by acylation of the corresponding 5-oxy-tetracycline.

The cpds. are antibiotics, some of which give high blood levels and  
others are active against tetracycline-resistant organisms.



⑫

Deutsche Kl.: 12 o, 25  
30 h, 2/36

⑩

# Offenlegungsschrift 2128 432

⑪

Aktenzeichen: P 21 28 432.2

⑫

Anmeldetag: 8. Juni 1971

⑬

Offenlegungstag: 16. Dezember 1971

⑭

Ausstellungsriorität: —

⑮

Unionspriorität

⑯

Datum: 12. Juni 1970

⑰

Land: Italien

⑱

Aktenzeichen: 25875 A-70

⑲

Bezeichnung: Verfahren zur Herstellung von Estern von 6-Deoxy-5-oxytetracyclin

⑳

Zusatz zu: —

㉑

Ausscheidung aus: —

㉒

Anmelder: Societa Farmaceutici Italia, Mailand (Italien)

㉓

Vertreter gem. § 16 PatG: Schalk, W., Dr.; Wirth, P., Dipl.-Ing.; Dannenberg, G. E. M., Dipl.-Ing.; Schmied-Kowarzik, V., Dr.; Weinhold, P., Dr.; Gudel, D., Dr.; Patentanwälte, 6000 Frankfurt

㉔

Als Erfinder benannt: Bernardi, Luigi; Castiglione, Roberto de; Masi, Paolo; Mailand (Italien)

Benachrichtigung gemäß Art. 7 § 1 Abs. 2 Nr. 1 d. Ges. v. 4. 9. 1967 (BGBl. I S. 960): —

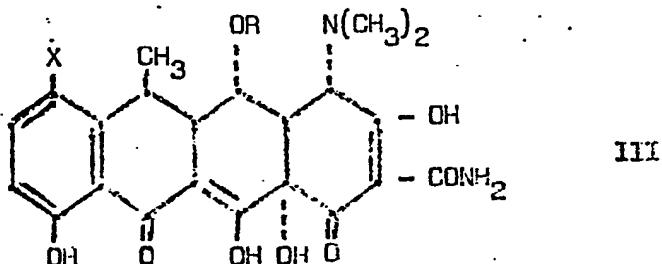
DR. W. SCHALK · DIPLO.-ING. P. WIRTH · DIPLO.-ING. G. DANNENBERG

DR. V. SCHMIED-KOWARZIK · DR. P. WEINHOLD · DR. D. GUDEL

6 FRANKFURT AM MAIN  
GR. ESCHENHEIMER STRASSE 89SK/SK  
G 286Società Farmaceutici Italia  
Mailand / ItalienVerfahren zur Herstellung von Ester von 6-Deoxy-5-oxytetracyclin

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf Ester von 6-Deoxy-5-oxytetracyclin, die Additionssalze derselben mit nicht-toxischen, pharmazeutisch annehmbaren Säuren und auf das Verfahren zu ihrer Herstellung.

Die vorliegende Erfindung bezieht sich insbesondere auf 6-Deoxy-5-oxytetracyclinester mit der folgenden Struktur



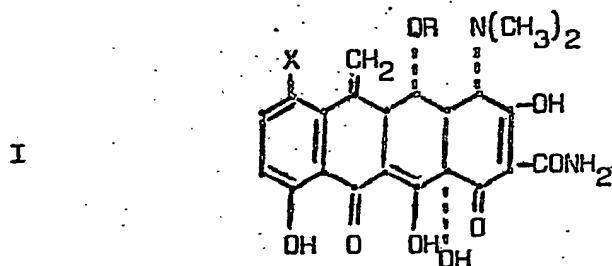
in welcher R für einen Rest einer organischen Mono- oder Dicarbonsäure mit 1-10 Kohlenstoffatomen steht und X Wasserstoff, Chlor und Brom bedeutet; die Additionssalze derselben mit nicht-toxischen, pharmazeutisch annehmbaren Säuren und auf das Verfahren zu ihrer Herstellung. Diese Ester besitzen eine gute antibiotische Wirksamkeit.

Einige der Ester sind bei oraler Verabreichung durch eine sehr gute Absorption gekennzeichnet, und ergeben höhere Spiegel im Blut als solche, die dem in 5-Stellung nicht-acylierten 6-Deoxy-5-oxytetracyclin entsprechen. Andere sind durch gute antibiotische Wirksamkeit auch gegen tetracyclin-resistente Stämme gekennzeichnet.

Aus der Literatur ist es bekannt (vgl. J. Am. Chem. Soc. 84, 2645 (1962)), daß es in der 6-Stellung des Tetracyclinskelettes zwei verschiedene sterische Konfigurationen der Methylgruppe gibt, die als "epi" und "normal" oder besser als "A" und "B" bezeichnet werden. Die Konfiguration dieser Tetracycline und ihrer Ester in der 5-Stellung kann mittels NMR Spektroskopie leicht bestimmt werden.

Tatsächlich zeigen die 6 $\alpha$ -Derivate in Dimethylsulfoxid das Signal (Doublette) aufgrund von  $\text{CH}_3$  bei etwa 1,5  $\delta$ , während die 6 $\beta$ -Derivate dasselbe Signal bei etwa 1  $\delta$  zeigen.

In der italienischen Anmeldung 20699 A/69 vom 8.8.1969 der Anmelderin /\*  
sind neue Tetracyclinderivate und insbesondere 6-Demethyl-6-deoxy-6-methylen-  
5-acyloxy-tetracycline der Struktur

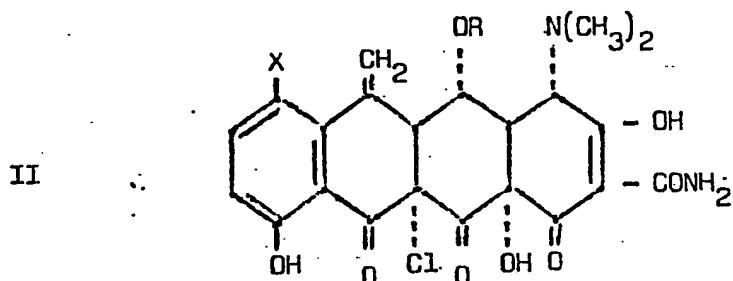


in welcher R für einen Rest einer organischen Säure mit 1-10 Kohlenstoffatomen steht und X Wasserstoff, Chlor oder Brom bedeutet, beschrieben und beansprucht.

/\* (deutsche Anmeldung P 20 37 292.3 vom 28.7.1970)

109851/1969

In der oben genannten Anmeldung sind auch neue 11a-Chlor-6-demethyl-6-deoxy-6-methylen-5-acyloxy-tetracycline der folgenden Struktur beschrieben:



in welcher R und X die obige Bedeutung haben.

Diese Verbindungen sind Zwischenprodukte, die nicht nur zur Herstellung der Derivate I der genannten Patentanmeldung, sondern auch der Derivate III der vorliegenden Anmeldung geeignet sind, wie im einzelnen noch ausgeführt wird.

Es wurde nun gefunden – und dies ist das Ziel der vorliegenden Erfindung – daß die Reduktion einer Verbindung aus der Gruppe von 6-Demethyl-6-deoxy-6-methylen-5-acyloxytetracyclinen (I) und 11a-Chlor-6-demethyl-6-deoxy-6-methylen-5-acyloxy-tetracyclinen (II) mit Wasserstoff in Anwesenheit eines geeigneten Katalysators der Platingruppe eine Mischung aus  $\alpha$ -6-Deoxy-5-acyloxytetracyclinen und  $\beta$ -6-Deoxy-5-acyloxytetracyclinen (III) liefert, die durch bekannte chemisch-physikalische Verfahren, wie Gegenstromverteilung, Kolonnen-chromatographie oder fraktionierte Ausfällung, in die beiden Epimeren getrennt werden kann.

Die  $\alpha$ -6-Deoxy-5-acyloxytetracycline und  $\beta$ -6-Deoxy-5-acyloxytetracycline (III) können auch durch direkte Acylierung der entsprechenden Verbindung mit einer freien Hydroxygruppe in 5-Stellung (III; R = H) hergestellt werden.

Diese Acylierung erfolgt z.B. mit der gewünschten organischen Säure in Anwesenheit einer starken Säure aus der Gruppe von Fluorwasserstoffsäure, Methansulfonsäure und Äthansulfonsäure.

Erfindungsgemäß werden die 6-Demethyl-6-deoxy-6-methylen-5-acyloxytetracycline der Formel I in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst oder suspendiert und mit Wasserstoff bei geeigneter Temperatur und unter geeignetem Druck in Anwesenheit katalytischer Mengen eines Metalles der Platingruppe umgesetzt.

Die absorbierte Wasserstoffmenge wird so reguliert, daß die Methylengruppe in 6-Stellung in eine Methylgruppe reduziert wird, und andere gegebenenfalls im Molekül anwesende reduzierbare Gruppen, wie 11 $\alpha$ -Chlor- und 7-Halogengruppen, ebenfalls reduziert werden.

Das Lösungs- oder Suspensionsmedium durch Durchführung der katalytischen Reduktion wird so ausgewählt, daß es den Katalysator oder die Ausgangs- oder Endtetracyclinverbindung nicht stört. Zu diesem Zweck eignen sich polare, organische Lösungsmittel, wie niedrige aliphatische Alkohole, z.B. Methanol, Äthanol, mit Wasser mischbare Äther, wie Tetrahydrofuran und Dioxan, niedrige aliphatische Säuren, wie wasserfreie oder wässrige Ameisen- und Essigsäure. Oft ist es zweckmäßig, die Reduktion in Anwesenheit geringer Mengen starker Mineralsäure, wie Salzsäure, durchzuführen.

Bezüglich der Temperaturbedingungen und des Hydrierungsdruckes wurden keine kritischen Werte festgestellt. Das Verfahren erfolgt gewöhnlich bei 0-50°C., vorzugsweise bei Zimmertemperatur, und zwischen 100 Atm. und normalem Druck.

Als Katalysator der Platingruppe wird Platin, Palladium, Rhodium, Ruthenium und Iridium sowie deren Oxyde und Chloride verwendet. Der Katalysator kann per se dispergiert oder auf einem geeigneten Träger, wie Kohle, Kiesel säure oder Bariumsulfat, abgeschieden sein. Nach beendeter Reduktion wird der Katalysator abfiltriert und das Reaktionsprodukt in der auf dem Tetracyclinegebiet üblichen Weise isoliert und gereinigt.

Wie oben erwähnt, besteht das Reduktionsprodukt aus einer Mischung der zwei Epimeren, nämlich  $\alpha$ -6-Deoxy-5-acyloxytetracyclin und  $\beta$ -6-Deoxy-5-acyloxy-tetra-cyclin in unterschiedlichen Verhältnissen, die zur Darstellung der unterschiedlichen pharmakologischen Eigenschaften der Epimeren selbst vorzugsweise getrennt wird. Diese Trennung erfolgt nach den auf dem Tetracyclinegebiet bekannten Verfahren, wie z.B. fraktionierte Ausfällung, Gegenstromverteilung und Kolonnenchromatographie.

Die verwendeten Diphasen-Lösungsmittelmischungen bestehen gewöhnlich aus Pufferlösungen mit einem pH-Wert zwischen 2-6, wie z.B. Mc-Elvain-Puffer, und mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel aus der Gruppe von n- und Isobutyl- und -amylalkoholen, gemischten Ketonen, wie Methylisobutylketon, und chlorierten Lösungsmittel. Aus der Gegenstromverteilungsvorrichtung kommen zuerst die am wenigsten polaren Fraktionen und später allmählich diejenigen mit steigender Polarität. Mit Vorteil kann man auch die Kolonnenchromatographie mit einem geeigneten Träger und einem geeigneten Eluierungssystem anwenden.

Gute Ergebnisse erzielt man unter Verwendung von Cellulose und einer Lösungsmittelmischung ähnlich der für den Gegenstrom angegebenen. Aufgrund ihrer amphoteren Natur können die erfindungsgemäßen Verbindungen in der Therapie per se oder als ihre Salze mit nicht-toxischen, pharmazeutisch annehmbaren Säuren verwendet werden. Man kann auch Komplexe mit Calcium herstellen.

Die  $\alpha$ -6-Deoxy-5-acyloxytetracycline und B-6-Deoxy-5-acyloxytetracycline können auch durch direkte Acylierung der entsprechenden 6-Deoxy-5-oxytetracycline hergestellt werden.

Diese Acylierung kann durch Behandlung von 6-Deoxy-5-oxytetracyclin mit einer organischen Mono- oder Dicarbonsäure mit 1-10 Kohlenstoffatomen in Anwesenheit einer starken Säure aus der Gruppe von Fluorwasserstoff-, Methansulfon- und Äthansulfonsäure erfolgen.

Auch in diesem Fall können zur Isolierung und Reinigung des in 5-Stellung acylierten Produktes dieselben Verfahren angewendet werden, die zur Isolierung und Reinigung der durch katalytische Reduktion aus den entsprechenden 6-Methylenderivaten hergestellten Verbindungen beschrieben wurden.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind besonders zweckmäßig als antibakterielle Produkte; einige besitzen bakterizide Wirksamkeit bei tetracyclin-resistenten Stämmen, während andere eine sehr gute orale Absorption zeigen und Blutspiegel über den durch Doxycyclin oder  $\alpha$ -6-Deoxy-5-oxytetracyclin, mit denen die erfindungsgemäßen Verbindungen eine nahe Struktur analogie haben, gezeigten ergeben. Die Wirksamkeit bei tetracyclin-resistenten Stämmen wurde in vitro im Vergleich zu Doxycyclin getestet.

Tabelle 1 gibt die Werte der Inhibierungsmindeskonzentration, ausgedrückt in  $\mu\text{g}/\text{ccm}$ , d.h. die Mindestmenge an Substanz, die *in vitro* die Entwicklung der untersuchten Mikroorganismen vollständig inhibiert.

Tabelle 1

Wirksamkeit gegen tetracyclin-resistenten *Staphylococcus aureus* ATCC 12715

Verbindung	Inhibierungsmindeskonzentration $\mu\text{g}/\text{ccm}$
$\alpha$ -6-Deoxy-5-oxytetracyclin (Doxycyclin)	20,0
$\alpha$ -6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin	5,0
B-6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin	20,0
$\alpha$ -6-Deoxy-5-(2-äthylbutyryl)-oxytetracyclin	0,3
B-6-Deoxy-5-(2-äthylbutyryl)-oxytetracyclin	0,6
$\alpha$ -6-Deoxy-5-(p-methylbenzoyl)-oxytetracyclin	0,6
$\alpha$ -6-Deoxy-5-(B-chlorpropionyl)-oxytetracyclin	5,0

In Tabelle 2 sind einige Ergebnisse von *in vivo* Vergleichstests zwischen Doxycyclin und dem ersten Mitglied der erfindungsgemäßen Verbindungen, nämlich  $\alpha$ -6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin, angegeben. Dieser Vergleichstests erfolgte an Mäusen (12 Tiere pro Gruppe), die intraperitoneal mit *Staphylococcus aureus* PV infiziert wurden; dann wurden die beiden Testantibiotika oral 4, 24, 48 und 72 Stunden nach der Infizierung verabreicht. Dabei bedeutet  $\text{PD}_{50}$  die Schutzdosis 50.

- 8 -

Tabelle 2

Verbindung	Dosis mg/kg	% Sterblichkeit am 11. Tag	PD <sub>50</sub>
Kontrollgruppe	—	100	
Doxycyclin	50	0	
	25	16	15
	12,5	58	
	6,25	100	
$\alpha$ -6-Deoxy-5-formyl- oxytetracyclin	50	0	
	25	0	
	12,5	16	7,5
	6,25	58	

Aus Tabelle 2 geht hervor, daß die erfindungsgemäße Verbindung einen PD<sub>50</sub> Wert zeigt, der die Hälfte des entsprechenden Wertes von Doxycyclin ist.

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse weiterer Vergleichstests an Mäusen (12 Tiere pro Gruppe) angegeben, die intraperitoneal mit *Salmonella abortivo equina* (Gram-negativer Stamm) infiziert waren. Auch bei diesem Test wurden die beiden Testantibiotika oral 4, 24, 48 und 72 Stunden nach der Infizierung verabreicht.

Tabelle 3

Verbindung	Dosis mg/kg	% Sterblichkeit	PD <sub>50</sub>
Kontrollgruppe	—	100	
Doxycyclin	50	25	
	25	75	40
$\alpha$ -6-Deoxy-5-formyloxy- tetracyclin	50	0	
	25	50	25

In Tabelle 4 sind Vergleichsdaten der akuten Toxizität (LD<sub>50</sub> in g/kg Körpergewicht) bei Mäusen (Gruppen von 10 Tieren pro Dosis) zwischen Doxycyclin und  $\alpha$ -6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin bei oraler Verabreichung angegeben.

Tabelle 4

Verbindung	LD <sub>50</sub>	Sicherheitsgrenzen
Doxycyclin	2,140	2,09-2,20
$\alpha$ -6-Deoxy-5-Formyloxytetracyclin	4,68	3,92-5,57

Die folgenden Beispiele veranschaulichen die vorliegende Erfindung, ohne sie zu beschränken.

Beispiel 1

6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin

1,5 g 6-Deoxy-6-demethyl-6-methylen-5-formyloxytetracyclin wurden in 30 ccm Ameisensäure gelöst und unter atmosphärischem Druck und bei Zimmertemperatur mit 500 mg PtO<sub>2</sub> hydriert. Nach etwa 1 std und 20 min war die Reaktion beendet (Verschwinden des Maximums bei  $\lambda = 240 \text{ m} \mu$  im UV-Spektrum). Das Produkt wurde filtriert, die Ameisensäure wurde unterhalb 35°C. unter Vakuum abgedampft; dann wurde mit einer 1:1-Mischung aus Äthylacetat und Methanol aufgenommen und mit Tierkohle entfärbt.

Nach Konzentrieren unter Vakuum wurde das Produkt mit Äthyläther ausgefällt. Durch Zugabe von Petroläther zu den Mutterlaugen wurden weitere 900 mg Produkt gewonnen. Die Gegenstromverteilung mit einer Lösungsmittelmischung aus 1100 ccm Mc-Elvain Puffer (pH-Wert = 4,6), 480 ccm Methylisobutylketon, 480 ccm Äthylacetat und 210 ccm Butanol ergab  $\alpha$ -6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin und  $\beta$ -6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin mit einer Doublette bei  $\delta 1,02$  im NMR-Spektrum (UMSO-d<sub>6</sub>-CDCl<sub>3</sub> 1:1). Im UV-Spektrum zeigt  $\alpha$ -6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin in einer Lösung aus 80 Teilen 0,01N wässriger Salzsäure und 20 Teilen Methylalkohol ein Maximum bei 268 m<sub>μ</sub> und ein weiteres Maximum bei 345 m<sub>μ</sub>. Das IR-Spektrum (in KBr) zeigt Maxima bei 1730 cm<sup>-1</sup> und 1165 cm<sup>-1</sup>.

Das NMR-Spektrum in  $\text{CDCl}_3$  zeigte die folgenden charakteristischen Signale:  $\delta$  1,49 (d, 3H);  $\delta$  2,60 (s, 6H);  $\delta$  5,95 (m, 1H);  $\delta$  6,7-7,7 (m, 3H);  $\delta$  7,95 (s, 1H). Das Produkt zeigte die folgenden Inhibierungsmindeskonzentrationen (der entsprechende Wert von Doxycyclin ist in Klammern angegeben): *E. coli* B: 0,3 (0,62); *Klebsiella pneumoniae* 0,15 (0,62); *Mycobacterium* sp. ATCC 607 0,07 (0,15); vgl. weiterhin Tabelle 2 und 3.

### Beispiel 2

#### 6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin

a) Herstellung des  $11\alpha$ -Chlor-6-demethyl-6-deoxy-6-methyl-5-formyloxytetracyclin-zwischenproduktes

20 g  $11\alpha$ -Chlor-5-hydroxytetracyclin-6,12-hemiketal wurden in 100 ccm 99-%iger Amieseinsäure in einem Polythenkolben suspendiert. Das Produkt wurde äußerlich mit einer Kühlmischung von  $-15^{\circ}\text{C}$ . gekühlt, dann wurden 100 ccm wasserfreie Fluorwasserstoffsäure zugegeben. Die Temperatur wurde auf Zimmertemperatur ansteigen gelassen. Dann wurde die Reaktionsmasse bei dieser Temperatur etwa 20 Stunden stehen gelassen.

Zur Entfernung der Fluorwasserstoffsäure wurde ein Stickstoffstrom eingeleitet, die Mischung wurde unter Vakuum auf ein kleines Volumen eingedampft, der Rückstand wurde in etwa 2 l Äthyläther gegossen, 10 Minuten gerührt und dann filtriert. Das erhaltene Produkte wurde auf dem Filter mit Äthyläther gewaschen, unter Vakuum getrocknet und aus Methanol/Äther umkristallisiert.

b) Herstellung von 6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin

Das oben erhaltene, umkristallisierte Produkte wurde in einen 3-1-Autoklaven gegeben, dann wurden 500 ccm Methanol und 5 g eines aus 5 % Rhodium auf Tierkohle bestehenden Katalysators zugefügt. Der Wasserstoffdruck wurde auf 3-5 Atm. eingestellt, und das Produkt wurde 12 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt. Es wurden weitere 5 g Katalysator zugefügt und das Ganze 12 Stunden hydriert. Nach dem Filtrieren wurde der Filterkuchen mit Methanol gewaschen und und Filtrat und vereinigte Waschmaterialien wurden im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der feste Rückstand wurde mit wenig Äther aufgeschlämmt und fil-

triert. Das so erhaltene Rohprodukt wurde in einer Pufferlösung bei einem pH-Wert von 4,5 gelöst. Getrennt wurde eine chromatographische Kolonne (h = 150 cm; Durchmesser 3 cm) hergestellt, die mit Cellulose, die in der obigen Pufferlösung aufgeschlämmt war, gefüllt und mit einer 1:1-Mischung aus Äthylacetat und Methylisobutylketon gesättigt war. Die Lösung des Produktes wurde durch diese Kolonne chromatographiert, wobei mit einer 1:1-Mischung aus Äthylacetat/Methylisobutylketon eluiert wurde, die mit einer Pufferlösung bei einem pH-Wert von 4,5 gesättigt war.

In der ersten Fraktion wurde  $\alpha$ -6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin gesammelt, in der zweiten Fraktion ging eine geringe Menge 6-Demethyl-6-deoxy-6-methylen-5-formyloxytetracyclin über; die dritte Fraktion enthielt B-6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin.

Beispiel 3

6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin

3 g 6-Deoxy-6-demethyl-6-methylen-5-acetyloxytetracyclin wurden in 50 ccm einer 1:1-Mischung aus Wasser und Äthanol mit 3 ccm wässriger konz. Salzsäure gelöst. Es wurde 1 g Adams-Katalysators ( $\text{PtO}_2/\text{C}$ ) zugefügt und das Produkt bei Zimmertemperatur unter 5 Atm. hydriert, wobei der Reduktionsverlauf durch UV-Spektrum verfolgt wurde. Danach wurde filtriert und unter Vakuum zur Trockne eingedampft.

Der Rückstand wurde mit Methanol aufgenommen und mit Tierkohle entfärbt. Nach Konzentration auf ein kleines Volumen wurde das Produkt durch Verdünnen mit dem dreifachen Volumen an Äthyläther ausgefällt.

Das kristalline Produkt bestand aus einer  $\alpha$ -6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin-hydrochloridmischung, die wie in Beispiel 1 einer Gegenstromteilung unterworfen wurde. Die ersten Fraktionen bestanden aus dem  $\alpha$ -6-Epimeren, während die letzteren aus dem  $\beta$ -6-Epimeren bestanden.

Im UV-Spektrum zeigt  $\alpha$ -6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin zwei Maxima bei 272 und 345  $\text{m}_{\mu}$  (in einer Lösung aus verdünnter Salzsäure und Methanol). Das IR-Spektrum (in KBr) zeigt Maxima bei  $1745 \text{ cm}^{-1}$  und  $1240 \text{ cm}^{-1}$ . Das NMR-Spektrum in  $\text{CDCl}_3$  zeigt die folgenden charakteristischen Signale:  $\delta$  1,45 (d, 3H);  $\delta$  2,10 (s, 3H);  $\delta$  2,56 (s, 2H);  $\delta$  5,67 (m, 1H);  $\delta$  6,75-7,6 (m, 3H).

Beim NMR-Spektrum in  $\text{CDCl}_3$  zeigt  $\beta$ -6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin die folgenden charakteristischen Signale:  $\delta$  1,01 (d, 3H);  $\delta$  2,19 (s, 3H);  $\delta$  2,46 (s, 6H);  $\delta$  5,25 (zwei d, 1H);  $\delta$  6,5-7,6 (m, 3H).

Neben den in Tabelle 1 genannten Inhibierungsmindestwerten (in  $\mu\text{g}/\text{ccm}$ ) zeigt  $\beta$ -6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin beim Stamm *Mycobacterium* sp. ATCC 607 einen Inhibierungsmindestwert von 0,03 (Doxycyclin 0,15).

#### Beispiel 4

##### 6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin

Analoge Ergebnisse erzielte man, wenn man anstelle von 6-Deoxy-6-demethyl-6-methylen-5-acetoxytetracyclin 11 $\beta$ -Chlor-6-deoxy-6-demethyl-6-methylen-5-acetyloxytetracyclin einer katalytischen Reduktion unterwarf und anstelle des Adams-Katalysators ( $\text{PtO}_2/\text{C}$ ) Palladium-auf-Tierkohle verwendete.

Beispiel 56-Deoxy-5-(2-äthylbutyryl)-oxytetracyclin

1,0 g 6-Deoxy-6-demethyl-6-methylen-5-(2-äthylbutyryl)-oxytetracyclin wurde in 30 ccm einer 1:1-Mischung aus Wasser und Äthanol, die 1ccm konz. Salzsäure enthielt, gelöst. Es wurden 300 mg Adams-Katalysator ( $\text{PtO}_2/\text{C}$ ) zugefügt und das erhaltene Produkt bei Zimmertemperatur und 5 Atm hydriert. Der Reaktionsverlauf wurde durch UV-Spektroskopie verfolgt (das Maximum verschwand bei  $\lambda = 239 \text{ m} \mu$ ). Nach beendeter Reaktion wurde zur Entfernung der Katalysatoren filtriert, unter Vakuum zur Trockne eingedampft und das Produkt wie in Beispiel 3 durch Gegenstrom gereinigt.

Das UV-Spektrum von 6-Deoxy-5-(2-äthylbutyryl)-oxytetracyclin zeigt zwei Maxima bei 272 und 345  $\text{m} \mu$ ; das IR-Spektrum zeigt Maxima bei 1735 und  $1235 \text{ cm}^{-1}$ .

Das NMR-Spektrum in  $\text{CDCl}_3$  zeigt die folgenden charakteristischen Signale:

$\delta 0,91$  (t, 6H);  $\delta 1,3-1,8$  (m, 7H);  $\delta 2,57$  (s, 6H);  $\delta 5,80$  (m, 1H);  $\delta 6,75-7,65$  (m, 3H).

Beispiel 66-Deoxy-5-(2-äthylbutyryl)-oxytetracyclin

Analoge Ergebnisse wurden erzielt, wenn man anstelle von 6-Deoxy-6-demethyl-6-methylen-5-(2-äthylbutyryl)-oxytetracyclin 11 $\alpha$ -Chlor-6-deoxy-6-demethyl-6-methylen-5-(2-äthylbutyryl)-oxytetracyclin einer katalytischen Reduktion unterwarf.

Beispiel 76-Deoxy-5-(p-methylbenzoyl)-oxytetracyclin

Wurde 6-Deoxy-6-demethyl-6-methylen-5-(p-methylbenzoyl)-oxytetracyclin einer katalytischen Reduktion gemäß Beispiel 5 unterworfen, so erhielt man 6-Deoxy-6-(p-methylbenzoyl)-oxytetracyclin, das wie in Beispiel 3 gereinigt und in die beiden  $\alpha$ -6- und  $\beta$ -6-Epimeren getrennt werden kann.

Das UV-Spektrum von  $\alpha$ -6-Deoxy-5-(p-methylbenzoyl)-oxytetracyclin zeigt drei Maxima bei 245, 272 und 345 m $\mu$ .

Das NMR-Spektrum (in  $\text{CDCl}_3/\text{DMSO-d}_6$  in einem Verhältnis von 4:1) zeigt die folgenden charakteristischen Signale:  $\delta$  1,47 (d, 3H);  $\delta$  2,41 (s, 3H);  $\delta$  2,58 (s, 6H);  $\delta$  5,91 (m, 1H);  $\delta$  6,7-8,2 (m, 7H).

Beispiel 86-Deoxy-5-formyloxytetracyclin

1,0 g  $\alpha$ -6-Deoxy-5-oxytetracyclinhydrochlorid und 10 ccm Ameisensäure wurden in 30 ccm wasserfreier Fluorwasserstoffsäure gelöst. Die Mischung wurde bei Zimmertemperatur 115 Stunden stehen gelassen, dann wurde die Fluorwasserstoffsäure durch einen Stickstoffstrom entfernt. Der Rückstand wurde in 300 ccm Äthyläther gegossen, in dem er als gelber Feststoff ausfiel. Dann wurde er filtriert und der Feststoff in der unteren Phase einer Lösungsmittelmischung, hergestellt mit 1100 ccm McElvain Puffer (pH-Wert = 4,6), 480 ccm Methyl-isobutylketon, 480 ccm Äthylacetat und 200 ccm Butylalkohol, gelöst. Es wurde die zum Lösen des Produktes ausreichende Mindestmenge an unterer Phase verwendet; gleichzeitig wurde das Produkt als Base freigesetzt und

dann drei Mal mit der oberen Phase der obigen Lösungsmittelmischung extrahiert. Die obere Phase wurde 10 Mal mit der unteren Phase gewaschen und dann getrocknet.

Der Rückstand wurde in 50 ccm Äthylacetat gelöst, zweimal mit dest. Wasser gewaschen, über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, mit Tierkohle entfärbt und aus Äthylacetat/Petroläther umkristallisiert. So erhielt man  $\alpha$ -6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin, dessen Eigenschaften in Beispiel 1 angegeben sind.

In analoger Weise erhielt man, ausgehend von B-6-Deoxy-5-hydroxytetracyclin, B-6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin.

Im NMR-Spektrum ( $\text{DMSO-d}_6/\text{CDCl}_3 = 1:1$ ) zeigte sich die charakteristische Doublette bei 1,02.

#### Beispiel 9

##### 6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin

1,0 g  $\alpha$ -6-Deoxy-5-oxytetracyclhydrochlorid und 10 ccm Eisessig wurden in 30 ccm wasserfreier Fluorwasserstoffsäure gelöst und 115 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Fluorwasserstoffsäure wurde mit einem Stickstoffstrom entfernt und der Rückstand in 300 ccm Äthyläther gegossen.

Das aus dem Äthyläther ausgefallene und abfiltrierte Hydrochlorid wurde in der unteren Phase der in Beispiel 8 beschriebenen Lösungsmittelmischung gelöst, um die Base freizusetzen, die 3 Mal mit der oberen Phase extrahiert wurde. Letztere wurde zur Trockne eingedampft, der Rückstand wurde mit 50 ccm Äthylacetat aufgenommen und zweimal mit dest. Wasser gewaschen. Das erhaltene Produkt wurde über Natriumsulfat getrocknet, mit Tierkohle entfärbt und aus Äthylacetat/und Petroläther umkristallisiert; so erhielt man  $\alpha$ -6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin, dessen Eigenschaften in Beispiel 3 angegeben sind.

Beispiel 10 $\alpha$ -6-Deoxy-5-( $\beta$ -chlorpropionyl)-oxytetracyclin

Wurde in Verfahren von Beispiel 8 anstelle von Essigsäure  $\beta$ -Chlorpropionsäure verwendet, so erhielt man  $\alpha$ -6-Deoxy-5-( $\beta$ -chlorpropionyl)-oxytetracyclin.

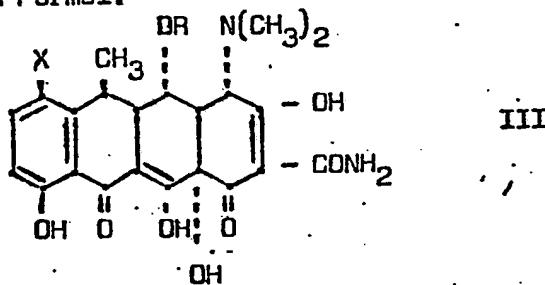
Das UV-Spektrum von  $\alpha$ -6-Deoxy-5-( $\beta$ -chlorpropionyl)-oxytetracyclin zeigt zwei Maxima bei 272 und 345 m $\mu$  u. Das IR-Spektrum (in KBr) zeigt Maxima bei 1740 und 1240 cm $^{-1}$ . Das NMR-Spektrum (in CDCl<sub>3</sub>) zeigt die folgenden charakteristischen Signale:  $\delta$  1,47 (d, 3H);  $\delta$  2,56 (s, 6H);  $\delta$  2,82 (t, 2H);  $\delta$  3,79 (t, 2H);  $\delta$  5,78 (m, 1H);  $\delta$  6,7-7,6 (m, 3H).

Beispiel 11 $\alpha$ -6-Deoxy-5-succinylloxytetracyclin

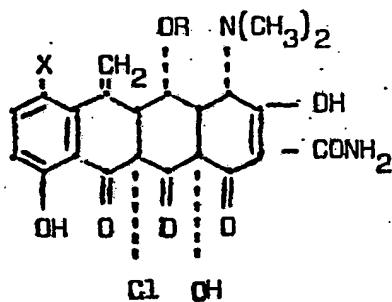
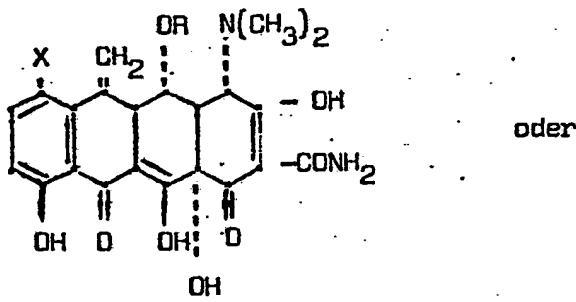
Wurde im Verfahren von Beispiel 8 anstelle von Essigsäure Bernsteinsäure verwendet, so erhielt man den entsprechenden Ester.

Patentansprüche

1. - Verfahren zur Herstellung der Ester von 6-Deoxy-5-oxytetracyclin und dessen Additionsalzen mit nicht-toxischen, pharmazeutisch annehmbaren Säuren mit der folgenden Formel:



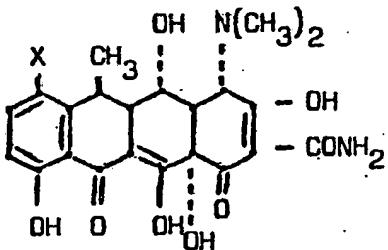
in welcher R für einen Rest einer organischen Mono- oder Dicarbonsäure mit 1-10 Kohlenstoffatomen steht und X Wasserstoff, Chlor oder Brom bedeutet, dadurch gekennzeichnet, daß man a) eine Verbindung der Formeln:



oder deren Additionsalze, in welchen R und X die obige Bedeutung haben, mit Wasserstoff in Anwesenheit eines geeigneten Katalysators der Platingruppe bei einer Temperatur von 0-50°C. und einem Druck zwischen atmosphärischem

Druck und 100 Atm. bis zur Absorption von 1-3 Mol Wasserstoff pro Mol Tetracyclinverbindung umsetzt, die so gebildete Mischung der  $\alpha$ -6 und  $\beta$ -6-Epimeren isoliert und als solche reinigt oder in üblicher Weise in ihre Komponenten trennt; oder

b) eine Verbindung der Formel:

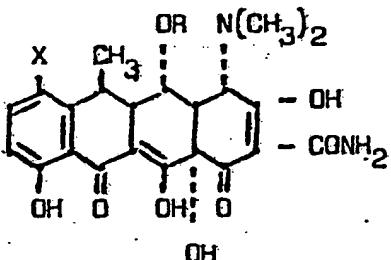


in welcher X die obige Bedeutung hat; mit einer organischen Mono- oder Dicarbonsäure mit 1-10 Kohlenstoffatomen in Anwesenheit einer starken Säure aus der Gruppe von Fluorwasserstoffsäure, Methansulfonsäure und Äthansulfonsäure umsetzt und das so gebildete Produkt in an sich bekannter Weise isoliert und reinigt.

2.- Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein Katalysator aus  $\text{PtO}_2$ , Rhodium oder Palladium verwendet wird.

3.- Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Veresterung in Anwesenheit von Fluorwasserstoffsäure erfolgt.

4.- Ester von 6-Deoxy-5-oxytetracyclin und von dessen Additionssalzen mit nicht-toxischen pharmazeutisch annehmbaren Säuren mit der Formel:



in welcher R für einen Rest einer organischen Mono- oder Dicarbonsäure

mit 1-10 Kohlenstoffatomen steht, und X Wasserstoff, Chlor oder Brom bedeutet.

5.- 6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin.

6.-  $\alpha$ -6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin.

7.- B-6-Deoxy-5-formyloxytetracyclin.

8.- 6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin.

9.-  $\alpha$ -6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin.

10.- B-6-Deoxy-5-acetyloxytetracyclin.

11.- 6-Deoxy-5-(2-äthylbutyryl)-oxytetracyclin.

12.-  $\alpha$ -6-Deoxy-5-(2-äthylbutyryl)-oxytetracyclin.

13.- B-6-Deoxy-5-(2-äthylbutyryl)-oxytetracyclin.

14.-  $\gamma$ -5-Deoxy-5-(p-methylbenzoyl)-oxytetracyclin.

15.-  $\alpha$ -6-Deoxy-5-(B-chlorpropionyl)-oxytetracyclin.

16.- Heilmittel, enthaltend eine oder mehrere Verbindungen gemäß Anspruch

4 bis 15 in einem geeigneten Träger.

Der Patentanwalt:

*W. Jend-Gruber*

109851/1969